

* NOTICES *

Japan Patent Office is not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

2. *** shows the word which can not be translated.

3. In the drawings, any words are not translated.

(11)Publication number : 06-340519

(43)Date of publication of application : 13.12.1994

(51)Int.Cl.

A61K 7/00

A61K 7/06

A61K 7/48

A61K 33/00

A61K 35/08

(21)Application number : 05-154217

(71)Applicant : KANEBO LTD

(22)Date of filing : 31.05.1993

(72)Inventor : NAKADA MASANORI

KAMIO MICHIKO

INOUE SHINTARO

MATSUDA SEIJI

AMAYA TSUTOMU

MIYAMOTO TATSU

(54) COLLAGEN METABOLISM ACTIVATION AGENT AND COSMETIC

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain a collagen metabolism activation agent containing hot spring water, having actions to promote the production of procollagenase and improving the lowering of the metabolic turnover rate of collagen caused by aging, producible at a low cost, having excellent safety and useful as a skin cosmetic or hair tonic cosmetic.

CONSTITUTION: This collagen metabolism activation agent contains a hot spring water. The hot spring water is selected from (1) hot spring water containing $\geq 6\text{mM}$ of sulfate ion, (2) hot spring water containing $\geq 30\text{mM}$ of Ca, Na, K and Mg cations in total and (3) hot spring water containing $\geq 30\text{mM}$ of chlorine, sulfate, bicarbonate and carbonate anions in total. A skin cosmetic having excellent effect for improving the softness, springiness and smoothness of the skin or a hair-tonic cosmetic having excellent hair-growing effect and falling-off preventing effect can be produced by compounding the collagen metabolism activation agent.

CLAIMS

[Claim(s)]

[Claim 1] The collagen metabolic turnover activator characterized by containing hot spring water.

[Claim 2] The charge of makeup characterized by containing the hot spring water chosen from the group which consists of following (A) - (C).

(A) Hot spring water containing the sulfate ion of 6 or more mM.

(B) Hot spring water whose total amount of cations of a potassium, sodium, calcium, and magnesium is 30 or more mM.

(C) Hot spring water whose total amount of anions of chlorine, a sulfuric acid, carbonic acid hydrogen, and carbonic acid is 30 or more mM.

[Claim 3] The charge of makeup according to claim 2 whose charge of makeup is a charge of skin makeup.

[Claim 4] The charge of makeup according to claim 2 whose charge of makeup is a charge of hair-growing makeup.

* NOTICES *

Japan Patent Office is not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

2. *** shows the word which can not be translated.

3. In the drawings, any words are not translated.

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Industrial Application] This invention can relate to the collagen metabolic turnover activator and the charge of makeup containing hot spring water, can raise the flexibility of the scalp in the collagen metabolic turnover activator which can promote pro collagenase production of a cell in more detail and the flexibility of the skin, resiliency, the charge of skin makeup excellent in the improvement effect of a wrinkle, and a list, and relates to the charge of hair-growing makeup excellent in the hair-fostering effectiveness and a depilation preventive effect.

[0002]

[Description of the Prior Art] While the collagen is contained in the skin 70% by the dry weight ratio and giving a physical characteristic to the skin, it has also had physiological effects of growth of a cell, differentiation, migration, etc. As for this collagen, it is known that a turnover rate will fall with aging (refer to modernization study, the December issue, 36 pages, and 1990).

[0003] If the collagen turnover rate accompanying aging falls, while the life of a collagen molecule will be prolonged and the rate of intermolecular bridge formation will increase, resistance comes (Aging of the Skin and 121 a page, 1989, Raven Press, New York) to be shown in collagenase decomposition. Consequently, the amount of collagenase needed in order to decompose the collagen of a constant rate will increase, and vicious circle that a turnover rate falls increasingly will be caused.

[0004] If the fall of the flexibility of the skin and resiliency and the increment in a wrinkle take place and it results in hair as a result of this vicious circle, stress-izing of the scalp, the fall of a blood stream, and the activity fall of a hair mother cell take place, and generating a psilosis is suggested.

[0005] Although more various charges of skin makeup than before and the charge of hair-growing makeup were developed, most ***** which will solve the above-mentioned problem positively and to stop were not made by kicking in direct work in the metabolic turnover of a collagen.

[0006] By the way, collagenase is the rate limiting enzyme at the time of decomposing the stromata mold collagen in connective tissue (an I-beam, II mold, and III mold collagen), and has played the role important for the metabolic turnover of a collagen. Collagenase is secreted from a cell as pro collagenase which is a precursor, and is considered that proteolytic enzyme, such as plasmin and SUTOROMU lysin, is activated after that in the living body at collagenase (Biochemical Journal and 166 refer to a volume, 21 pages, 1977 and Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A., 86 volumes, 2632 pages, and 1989).

[0007] From the above thing, it is thought for the improvement of a turnover-rate fall of the collagen accompanying aging that the matter which promotes production of pro collagenase is effective.

[0008] As matter which makes it possible to reinforce the pro collagenase production ability of a cell, cytokine, phorbol ester, etc., such as interleukin 1, a tumor necrosis factor (TNF), an epidermal growth factor (EGF), and a platelet induction growth factor (PDGF), are known until now. However, these cytokine is expensive and a manufacturing cost becomes high. Moreover, phorbol ester is the tumor promoter matter and the use is hard to be called insurance.

[0009]

[Problem(s) to be Solved by the Invention] Therefore, it has the improvement effect of a pro collagenase production promotion operation and a turnover-rate fall of the collagen accompanying aging, and moreover, the place made into the purpose of this invention is cheap, and is to offer charges of makeup, such as a charge of hair-growing makeup excellent in the charge of skin

* NOTICES *

Japan Patent Office is not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

2. *** shows the word which can not be translated.

3. In the drawings, any words are not translated.

makeup, the hair-fostering effectiveness, and a depilation preventive effect excellent in the improvement effect in the collagen metabolic turnover activator excellent also in safety and the flexibility of the skin, resiliency, and a wrinkle.

[0010]

[Means for Solving the Problem] The above-mentioned purpose is attained by the charge of makeup characterized by containing the collagen metabolic turnover activator characterized by containing hot spring water, and the hot spring water chosen from the group which consists of following (A) - (C).

(A) Hot spring water containing the sulfate ion of 6 or more mM.

(B) Hot spring water whose total amount of cations of a potassium, sodium, calcium, and magnesium is 30 or more mM.

(C) Hot spring water whose total amount of anions of chlorine, a sulfuric acid, carbonic acid hydrogen, and carbonic acid is 30 or more mM.

[0011] The thing of the component indicated below to be hot spring water used for this invention which contains a kind more than the amount of conventions among 1kg at least is said. 1g or more of dissolved material excluding [the component and content] the thing of gas nature, 250mg or more of free carbon dioxide, More than lithium ion 1mg, more than strontium 10mg, and more than barium ion 5mg A ferro or more than ferry-on 10mg, and more than first manganese ion 10mg 1mg or more of hydrogen ions, more than bromine ion 5mg, and more than iodine ion 1mg They are more than fluorine ion 2mg, more than hydronalium **** ion 1.3mg, 1mg or more of meta-*****, the 1mg or more of the total sulfur, 5mg or more of meta-way acids, 50mg or more of meta-silicic acids, 340mg or more of bicarbonate od soda, beyond a radon 2nCi unit, or 10 or more pgs of radium salts.

[0012] The hot spring water which contains the hot spring water which contains the hot spring water containing 6 or more mM of sulfate ion or a potassium, sodium, calcium, and magnesium the 30 or more mM of the total amounts of cations as desirable hot spring water or chlorine, a sulfuric acid, carbonic acid hydrogen, and carbonic acid the 30 or more mM of the total amounts of anions is mentioned.

[0013] The collagen metabolic turnover activator of this invention is supplied in forms, such as hot spring water itself, a thing which diluted hot spring water with water, neutralization water, etc., or a thing which added antiseptics, such as methylparaben, etc. suitably to the diluted hot spring water.

[0014] The collagen metabolic turnover activator of this invention can be used for making the amount of production of important pro collagenase increase on medicine and pharmaceutical sciences by adding to a culture medium in the case of a cell culture.

[0015] The charge of makeup of this invention can be made into the gestalt of charges of hair-growing makeup, such as charges of skin makeup, such as lotions, milky lotions, creams, ointment, and packs, or a tonic, a hair lotion, a hair cream, a hair conditioner, a shampoo, a rinse, hair gel, hair Myst, and hair foam, according to a conventional method. Moreover, a surfactant, a moisturizer, pH regulator, a thickener, a germicide, antiseptics, a keratolytic drug, an anti-oxidant, perfume, coloring matter, an ultraviolet ray absorbent, a pigment, an antiandrogen agent, etc. can be suitably blended in the range which does not spoil the purpose of this invention.

[0016] Although the loadings of the hot spring water to the collagen metabolic turnover activator and the charge of makeup of this invention change with the nature of the water of a hot spring, its 0.1 - 99 % of the weight is desirable on the basis of the total amount of a collagen metabolic turnover activator and the charge of makeup, and its 5 - 99 % of the weight is especially desirable.

[0017]

[Example] Hereafter, the example of a trial, an example, and the example of a comparison are given, and this invention is explained to a detail. In addition, the definition of the phrase used into the example of a trial is indicated.

* NOTICES *

Japan Patent Office is not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

2. **** shows the word which can not be translated.

3. In the drawings, any words are not translated.

[0018] MEM culture medium: In addition to [1l. of purified water] minimum-essential-medium 10-101(Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd. make) 1 bag, add and prepare a final concentration 0.1-% of the weight lactalbumin enzyme hydrolyzate (sigma company make), 1 capacity % nonessential amino acid, 1mM pyruvic-acid sodium (all are the Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd. make above), 0.12-% of the weight sodium hydrogencarbonate, and 50 mg/l streptomycin, respectively.

[0019] 2 double concentration MEM culture-medium: -- minimum-essential-medium 10-101(Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd. make) 1 bag -- 500ml of purified water -- adding -- respectively -- the 0.2 % of the weight lactalbumin enzyme hydrolyzate (sigma company make) of final concentration, 2 capacity % nonessential amino acid, 2mM pyruvic-acid sodium (all are the Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd. make above), a 0.24-% of the weight sodium hydrogencarbonate, and 100 mg/l Streptomycin is added and prepared.

[0020] FBS: Fetal calf serum [0021] The buffer solution for measurement: 0.2MNaCl, 5mM CaCl_2 , and 0.05 capacity %Brij-35 It is pH7.5 at a room temperature with a hydrochloric acid about 50mM tris water solution to contain. The adjusted buffer solution.

[0022] The amount of pro collagenase production: In this experiment, the quantum of the amount of pro collagenase production was carried out as collagenase activity activated and acquired by the trypsin.

[0023] In the acid case, the hot spring water 1-5 (Table 1, 2 reference) extracted from the one to example 5 fountainhead neutralized pH by 10-N sodium hydroxide, it carried out filtration sterilization by the nitrocellulose membrane (made in the ADVANTEC East DISMIC-25) whose pore size is 0.2 micrometers, and it was used as the collagen metabolic turnover activator (examples 1-5). In addition, the numeric value of front Naka expresses mM.

[0024]

[Table 1]

* NOTICES *

Japan Patent Office is not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

2. **** shows the word which can not be translated.

3. In the drawings, any words are not translated.

	温泉水番号 (泉質)	温泉水 1	温泉水 2 (Na-K-塩化物泉)	温泉水 3 (Ca-Na-塩化物泉)
陽 イ オン	カリウムイオン	0.1	4.3	0.23
	ナトリウムイオン	16.1	220.2	50.0
	カルシウムイオン	0.42	33.9	33.9
	マグネシウムイオン	0.003	21.5	0.42
	計	16.623	279.9	84.55
マンガンイオン Feイオン Znイオン アルミニウムイオン アンモニウムイオン Srイオン Liイオン	マンガンイオン	—	0.004	0.03
	Feイオン	—	0.009	0.001
	Znイオン	—	0.003	—
	アルミニウムイオン	—	—	—
	アンモニウムイオン	—	—	—
	Srイオン	—	0.08	—
	Liイオン	—	—	—
陰 イ オン	塩素イオン	2.81	308.7	108.9
	硫酸イオン	6.64	16.6	0.02
	炭酸水素イオン	0.99	0.82	0.22
	炭酸イオン	—	0.09	—
	計	10.44	326.21	109.14
フッ素イオン 臭素イオン ヨウ素イオン 硫酸水素イオン 硫化イオン チオ硫酸イオン	フッ素イオン	—	0.02	—
	臭素イオン	—	0.42	—
	ヨウ素イオン	—	0.001	—
	硫酸水素イオン	—	—	—
	硫化イオン	—	—	—
	チオ硫酸イオン	—	—	—
	メタケイ酸	1.00	1.8	0.55
	メタホウ酸	0.06	0.2	0.06
	メタ亜ヒ酸	—	0.002	—
	遊離硫化水素	—	—	—
	遊離二酸化炭素	—	0.04	—
	pH	—	7.7	7.3
	泉温	—	48°C / 使用位置	26°C

[0025]

[Table 2]

* NOTICES *

Japan Patent Office is not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

2. **** shows the word which can not be translated.

3. In the drawings, any words are not translated.

	温泉水番号 (泉質)	温泉水 4 (Na-塩化物硫酸塩泉)	温泉水 5 (硫酸塩塩化物泉)
陽 イ オン	カリウムイオン ナトリウムイオン カルシウムイオン マグネシウムイオン	0.91 27.2 3.49 0.05	0.31 1.9 1.8 1.1
	計	31.65	5.11
陰 イ オン	マンガンイオン Feイオン Znイオン アルミニウムイオン アンモニウムイオン Srイオン Liイオン	0.001 0.002 — — — — —	0.02 0.26 — 1.7 — 8.71 —
	塩素イオン 硫酸イオン 炭酸水素 炭酸イオン	25.3 4.8 0.89 —	8.38 6.71 — —
	計	30.99	15.09
	フッ素イオン 臭素イオン ヨウ素イオン 硫酸水素 硫化イオン チオ硫酸イ	— — — — — —	0.57 — — 1.95 — —
	メタケイ酸 メタホウ酸 メタ亜ヒ酸	1.29 — —	3.10 0.16 —
	遊離硫化 遊離二酸素	— —	0.19 —
	pH 泉温	8.1 68.4 °C	2.0 —

[0026]

The example -1 (pro collagenase production accelerated test) of a trial

1) It is 1x10⁵ at the MEM culture medium which contains 10 capacity %FBS for the preculture normal Homo sapiens fibroblast stock [Detroit-551 (ATCC CCL 110) extracted from a white woman's skin] of a cell. It prepared to an individual/ml, seeding of every 2ml was carried out to 6 hole plate, and it cultivated at 37 degrees C under 5% carbon dioxide gas and saturated steam.

[0027] 2) Mix the collagen metabolic turnover activator and sterilized water of the preparation examples 1-5 of a collagen metabolic turnover activator content culture medium, and it is 1.2 to the mixed liquor 1 capacity. The 2 double concentration MEM culture medium which added capacity %FBS was made into 12.5 % of the weight content culture medium of 1 capacity ****

* NOTICES *

Japan Patent Office is not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

2. *** shows the word which can not be translated.

3. In the drawings, any words are not translated.

collagen metabolic turnover activators.

[0028] 3) Suction removal of the 24 hours after [acquisition cell seeding] culture medium of pro collagenase was carried out, after washing a cell twice by the MEM culture medium which added final concentration 0.6 capacity %FBS, it permuted by 2ml of above-mentioned collagen metabolic turnover activator content culture media, it cultivated for nine days, and the culture supernatant was obtained.

[0029] 10mM tris hydrochloric-acid buffer solution [adjustment, 1mM calcium chloride, and 0.05 capacity %Brij-35 are included in pH 7.8 at 4 degrees C] was added to 250micro of obtained culture supernatants 1 1.75 ml, and it equilibrated with this buffer solution. It presented 0.5ml 4 times at a time CM-sepharose CL-6B TM (a Pharmacia manufacture, 0.5 ml bed capacity).

[0030] Next, it passed 4 times said 10mM tris hydrochloric-acid 0.5ml buffer solution containing 125mM salt, and inhibitor was removed, it passed 4 times said 10mM tris hydrochloric-acid 0.5ml buffer solution containing 500mM salt, and pro collagenases were collected.

[0031] It is the concentration of the collected pro collagenase with the buffer solution for measurement About 0.1-0.7 It adjusted to a unit/ml and this was made into test fluid.

[0032] 4) Activation, next test fluid 50microl of pro collagenase Trypsin solution (sigma company make and Type 12 are prepared to concentration 1 mg/ml with the buffer solution for measurement) 20microl Soybean-typsin-inhibitor solution (Merck Co. make No.24020 are prepared to concentration 3 mg/ml with the buffer solution for measurement) 30microl after adding and incubating for 5 minutes at 35 degrees C It adds. Deactivation of the trypsin was carried out and the collagenase solution was obtained.

[0033] 5) According to Nagai's etc. approach (refer to inflammation, four volumes, No. 2, 123 pages, and 1984), the activity (a unit/ml) of the above-mentioned collagenase was measured by the measurement full ORESSEN isothiocyanate (FITC) of the amount of pro collagenase production, using the I-beam collagen (FITC with a concentration of 1mg [/ml] - a collagen acetic-acid solution, Cosmobio make) by which the indicator was carried out as a substrate solution. And the collagenase produced from pro collagenase by the above-mentioned trypsinization is 1 at 35 degrees C. Per [1] between parts mug The amount which decomposes an I-beam collagen (FITC- collagen) was made into one unit of pro collagenase, and the amount of pro collagenase production (a unit / culture medium ml) was calculated (this value is set to X).

[0034] On the other hand, purified water was added instead of the collagen metabolic turnover activator (example 1 of a comparison), and the amount of pro collagenase production when not adding hot spring water by the same actuation as the above (a unit / culture medium ml) was calculated (this value is set to Y).

[0035] Subsequently, the rate of pro collagenase production promotion was computed by the bottom type from these values.

[0036]

Rate of pro collagenase production promotion $= (X - Y) / Y$ [0037] 6) The result of having carried out the quantum of the amount of pro collagenases in the culture supernatant obtained as a result of the trial is shown in Table 3. By addition of the collagen metabolic turnover activator of this invention, collagenase production of a cell increased with 1.8 times to 3.8 times, and checked the production promotion operation of hot spring water. Since it seemed that the number of cells is not different from additive-free it, and hot spring water did not annihilate a cell at this time, it was checked that the collagen metabolic turnover activator of this invention is safe.

[0038]

[Table 3]

* NOTICES *

Japan Patent Office is not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

2. **** shows the word which can not be translated.

3. In the drawings, any words are not translated.

	有効成分	温泉水中の(A), (B) 又は(C) 量 (ml)	コラゲナーゼ 産生促進率	細胞数×10 ⁻⁴ 相対比
比較例 1	精製水	—	1.0	1.0
実施例 1	温泉水 1	6.64 (A)	1.8 ± 0.4*	1.0 ± 0.2
実施例 2	温泉水 2	16.6 (A)	3.8 ± 0.2**	0.9 ± 0.1
実施例 3	温泉水 3	84.6 (B)	3.8 ± 0.8**	1.2 ± 0.2**
実施例 4	温泉水 4	31.0 (C)	2.0 ± 0.3*	0.8 ± 0.2
実施例 5	温泉水 5	6.71 (A)	2.0 ± 0.1*	1.1 ± 0.0
* 精製水群と比較し、P<0.05の危険率で有意(Duncan 法)。 ** 精製水群と比較し、P<0.01の危険率で有意。				

[0039] The methylparaben of 0.1 % of the weight of final concentration and purified water were added to hot spring water 1 of 60.5l. of examples, and it could be 4l. This was poured distributively to every 100ml 40 glass bottles, and the collagen metabolic turnover activator containing 12.5 % of the weight of hot spring water was obtained.

[0040] The collagen metabolic turnover activator which hot spring water 2 of 70.5l. of examples is used, and also contains 12.5 % of the weight of hot spring water like an example 6 was obtained.

[0041] The collagen metabolic turnover activator which hot spring water 3 of 80.5l. of examples is used, and also contains 12.5 % of the weight of hot spring water like an example 6 was obtained.

[0042] The collagen metabolic turnover activator which hot spring water 4 of 90.5l. of examples is used, and also contains 12.5 % of the weight of hot spring water like an example 6 was obtained.

[0043] The collagen metabolic turnover activator which hot spring water 5 of 100.5l. of examples is used, and also contains 12.5 % of the weight of hot spring water like an example 6 was obtained.

[0044] 0.5l. of purified water was used instead of example of comparison 2 hot spring water, and the trial specimen for a comparison was obtained.

[0045] The example -2 (beautiful skin effect service test) of a trial

1) The collagen metabolic turnover activator of six to trial specimen example 10 publication, and the trial specimen of example of comparison 2 publication [0046] 2) After making 20 woman test subjects (35-55 years old) who appeal against the test-method dry-area skin, fine lines, the desiccation skin, etc. do spreading use for continuation three months, they were made to evaluate a trial specimen about the improvement of the flexibility of the skin, resiliency, and a wrinkle twice every morning and evening every day. "The flexibility of the skin improved", "the resiliency of the skin having improved", and the number that answered "The wrinkle of the skin has improved" showed each term.

[0047] 3) The test-result result was shown in Table 4. Also in the service test, effectiveness was accepted so that more clearly than a table.

[0048]

[Table 4]

* NOTICES *

Japan Patent Office is not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

2. **** shows the word which can not be translated.

3. In the drawings, any words are not translated.

試験検体	柔軟性	弾力性	皺の改善
比較例 2	6	8	8
実施例 6	10	11	10
実施例 7	17	17	18
実施例 8	18	17	17
実施例 9	15	14	16
実施例 10	12	13	14

[0049] Example 11 (lotion)

Stirring the hot-spring-water mixture warmed to this mixture, the collagen metabolic turnover activator of an example 6, sodium lauryl sulfate, and purified water are warmed at 80 degrees C with a water bath, and it mixes, on the other hand, white beeswax, cetanol, and concentrated glycerin are warmed at 80 degrees C, and it mixes, and it adds gradually, and is 2.5 with a homogenizer (product made from TOKUSHUKIKAKOGYO). It stirred violently between parts (2500rpm). It cooled to the room temperature gradually, stirring, and the lotion which contains 11 % of the weight of hot spring water in 100 g was obtained.

[0050]

[Table 5]

実施例 6 のコラーゲン代謝賦活剤	150.0 g
ラウリル硫酸ナトリウム	0.5 g
精製水	12.9 g
サラシミツロウ	0.1 g
セタノール (商品名ピナソールNAA 48、日本油脂株式会社製)	1.5 g
濃グリセリン	5.0 g

[0051] Example 12 (lotion)

Stirring the hot-spring-water mixture warmed to this mixture, the collagen metabolic turnover activator of an example 8, sodium lauryl sulfate, and purified water are warmed at 80 degrees C with a water bath, and it mixes, on the other hand, white beeswax, cetanol, and concentrated glycerin are warmed at 80 degrees C, and it mixes, and it adds gradually, and is 2.5 with a homogenizer (product made from TOKUSHUKIKAKOGYO). It stirred violently between parts (2500rpm). It cooled to the room temperature gradually, stirring, and the lotion which contains 7.4 % of the weight of hot spring water in 100 g was obtained.

[0052]

[Table 6]

* NOTICES *

Japan Patent Office is not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

2. **** shows the word which can not be translated.

3. In the drawings, any words are not translated.

実施例 8 のコラーゲン代謝賦活剤	1 0 0. 0 g
ラウリル硫酸ナトリウム	0. 5 g
精製水	6 2. 9 g
サラシミツロウ	0. 1 g
セタノール	1. 5 g
濃グリセリン	5. 0 g

[0053] Example 13 (cream)

The mixed dissolution of the following component ** was carried out at about 80 degrees C at homogeneity, and after emulsifying [be / it / under / component ** / which carried out the mixed dissolution / adding] to homogeneity at about 80 degrees C, at about 50 degrees C, component ** which carried out the mixed dissolution was added to homogeneity, and it cooled and prepared to about 30 degrees C.

[0054]

[Table 7]

成分①	スクワラン	1 0. 0 g
	オリーブ油	1 0. 0 g
	固形パラフィン	5. 0 g
	セタノール	4. 0 g
	ソルビタンモノステアレート	2. 0 g
	ポリオキシエチレン	2. 0 g
	ソルビタンモノステアレート (2 0 E. O.)	
成分②	実施例 9 のコラーゲン代謝賦活剤	6 0. 0 g
成分③	グリセリン	5. 0 g
	精製水	2. 0 g

[0055]

The example -3 (the growth promotion effectiveness trial of Homo sapiens cephalic seta) of a trial 1) The collagen metabolic turnover activator of six to trial specimen example 10 publication, and the trial specimen of example of comparison 2 publication [0056] 2) The hair of the parietal region of ten male test subjects by whom a decline is accepted in hair growth of a 30-his 40's test method was shaved in the circle configuration with a diameter of about 7mm. Furthermore, it asked for the hair growth rate about the hair of an object part by the approach (British Journal of Dermatology,

* NOTICES *

Japan Patent Office is not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

2.*** shows the word which can not be translated.

3.In the drawings, any words are not translated.

125 volumes, 123 pages, 1991) of woods one day after hair cutting and three days after, and the average (A) was calculated. Next, about 3ml of samples of an example or the example of a comparison was applied twice to each test subject focusing on the examined part every morning and evening every day, and it was made to often massage. The hair growth rate of the same part was test initiation 3 month measured, and the average (B) was calculated. The judgment of effectiveness was because the average of ** [before and behind each sample use] (B)/(A) is compared.

[0057] 3) The test-result result was shown in Table 8. The growth promotion effectiveness of Homo sapiens cephalic seta was seen.

[0058]

[Table 8]

試験検体	ヒト頭髮毛成長促進
比較例 2	1. 0 1
実施例 6	1. 1 8
実施例 7	1. 3 4
実施例 8	1. 3 6
実施例 9	1. 2 5
実施例 1 0	1. 2 5

[0059]

Examples 14-18 (OIRI tonic)

The methylparaben of 0.1 % of the weight of final concentration and purified water were added to one to hot-spring-water 5 0.5l. each, it was referred to as 1l., and the collagen metabolic turnover activator containing 50 % of the weight of hot spring water was obtained. Using this 37.2g, according to the presentation of Table 9, mixed stirring of a hydrophilic component and the hydrophobic component was carried out, and the OIRI tonic was obtained (examples 14-18). In addition, hot spring water 5 was neutralized and used by 10-N sodium hydroxide.

[0060] The example 3 (OIRI tonic) of a comparison

The OIRI tonic was obtained like examples 14-18 except using 0.5l. of purified water instead of hot spring water.

[0061]

[Table 9]

* NOTICES *

Japan Patent Office is not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

2. **** shows the word which can not be translated.

3. In the drawings, any words are not translated.

「親水性成分」	グリセリン	5. 0 g
	香料	0. 1 g
	温泉水 1 ~ 5 含有コラゲナーゼ代謝改善剤	37. 2 g
「親油性成分」	オリーブ油	5. 0 g
	イソプロピルミリステート	2. 0 g
	イソプロピルメチルフェノール	0. 1 g
	ポリオキシエチレン	0. 5 g
	ノニルフェニルエーテル (20E. 0.)	
	パラオキシ安息香酸メチル	0. 1 g
	エタノール	50. 0 g

[0062] The example -4 (the hair-growing effectiveness service test) of a trial

1) A trial specimen given in the charge of hair-growing makeup and the example 3 of a comparison of 14 to trial specimen example 18 publication [0063] 2) The effectiveness after applying a sample to the head of 20 male test subjects by whom a decline is accepted in hair growth of a 30-his 40's test method for continuation six months twice every morning and evening every day was judged. "The lanugo's having bristle-ized or the lanugo's having increased" and the number which answered, "Depilation decreased" showed the judgment of effectiveness to each item of the hair-fostering effectiveness and a depilation preventive effect.

[0064] 3) The test-result result was shown in Table 10. In the Homo sapiens service test, the hair restorer effectiveness and a depilation preventive effect were accepted.

[0065]

[Table 10]

試験検体	育毛効果	脱毛予防効果
比較例 3	5	7
実施例 14	13	12
実施例 15	16	15
実施例 16	16	16
実施例 17	14	13
実施例 18	13	14

[0066] Example 19 (hair cream)

Stirring was continued and the hair cream was prepared after carrying out the mixed dissolution at about 80 degrees C at homogeneity and emulsifying [be / it / under / oleophilic component / which carried out the mixed dissolution / adding] beforehand the following hydrophilic-property component containing the collagen metabolic turnover activator of an example 8 to homogeneity at about 80 degrees C until it added the perfume component at about 50 degrees C and became about 30 degrees C.

[0067]

[Table 11]

* NOTICES *

Japan Patent Office is not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

2. *** shows the word which can not be translated.

3. In the drawings, any words are not translated.

親油性成分	流動パラフィン	30.0 g
	ステアリン酸	5.0 g
	セタノール	5.0 g
	ソルビタンモノステアレート	3.0 g
	ポリオキシエチレンソルビタンモノステアレート	3.0 g
	イソプロピルメチルフェノール	0.1 g
親水性成分	実施例8のコラーゲン代謝賦活剤	48.5 g
	パラオキシ安息香酸メチル	0.2 g
	グリセリン	5.0 g
香料	香料	0.2 g

[0068]

[Effect of the Invention] When the collagen metabolic turnover activator of this invention promotes production of pro collagenase and blends the collagen metabolic turnover activator with the charge of skin makeup from the above result, it is clear that the flexibility of the skin, resiliency, and the charge of makeup excellent in the improvement effect of a wrinkle can be offered, and by blending with the charge of hair-growing makeup that the charge of hair-growing makeup which is excellent in the hair-fostering effectiveness and a depilation preventive effect can be offered.

[Translation done.]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平6-340519

(43) 公開日 平成6年(1994)12月13日

(51) Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 7/00	K	9051-4C		
	B	9051-4C		
	W	9051-4C		
7/06		8615-4C		
7/48		9051-4C		
審査請求 未請求 請求項の数 4 F D (全 10 頁) 最終頁に続く				

(21) 出願番号	特願平5-154217	(71) 出願人	000000952 鐘紡株式会社 東京都墨田区墨田五丁目17番4号
(22) 出願日	平成5年(1993)5月31日	(72) 発明者	中田 正典 神奈川県小田原市寿町5丁目3番28号 鐘紡株式会社生化学研究所内
		(72) 発明者	神尾 美智子 神奈川県小田原市寿町5丁目3番28号 鐘紡株式会社生化学研究所内
		(72) 発明者	井上 紳太郎 神奈川県小田原市寿町5丁目3番28号 鐘紡株式会社生化学研究所内
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 コラーゲン代謝賦活剤及び化粧料

(57) 【要約】

【構成】 温泉水を含有することを特徴とするコラーゲン代謝賦活剤、及び温泉水を含有することを特徴とする皮膚化粧料又は養毛化粧料。

【効果】 ヒト皮膚線維芽細胞のプロコラゲナーゼの産生量を促進することによって、皮膚の柔軟性、弾力性、皺を改善し、又はヒト頭髮毛成長を促し、育毛効果および脱毛予防効果が得られる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 温泉水を含有することを特徴とするコラーゲン代謝賦活剤。

【請求項2】 下記(A)～(C)よりなる群から選択される温泉水を含有することを特徴とする化粧品。

(A) 6 mM以上の硫酸イオンを含む温泉水。

(B) カリウム、ナトリウム、カルシウム、マグネシウムの総陽イオン量が30 mM以上である温泉水。

(C) 塩素、硫酸、炭酸水素、炭酸の総陰イオン量が30 mM以上である温泉水。

【請求項3】 化粧品が皮膚化粧品である請求項2記載の化粧品。

【請求項4】 化粧品が養毛化粧品である請求項2記載の化粧品。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、温泉水を含有するコラーゲン代謝賦活剤及び化粧品に係り、更に詳しくは細胞のプロコラーゲナーゼ産生を促進することのできるコラーゲン代謝賦活剤、及び皮膚の柔軟性、弾力性、皺の改善効果に優れた皮膚化粧品、並びに頭皮の柔軟性を向上させることができ、育毛効果および脱毛予防効果に優れた養毛化粧品に関する。

【0002】

【従来の技術】皮膚にはコラーゲンが乾燥重量比で70%含まれており、皮膚に物理的特性を与えると共に、細胞の増殖、分化、移動などの生理的な影響も与えている。このコラーゲンは、老化に伴い代謝回転速度が低下することが知られている(現代化学、12月号、36頁、1990年参照)。

【0003】老化に伴うコラーゲン代謝回転速度が低下すると、コラーゲン分子の寿命が長びき、分子間架橋の割合が増すと共に、コラーゲナーゼ分解に抵抗性を示すようになる(Aging of the Skin、121頁、1989年、Raven Press、New York)。その結果、一定量のコラーゲンを分解するために必要とされるコラーゲナーゼの量が増加し、ますます代謝回転速度が低下するという悪循環を引き起こすことになる。

【0004】この悪循環の結果、皮膚の柔軟性、弾力性の低下や皺の増加が起こり、また毛髪に至っては、頭皮の緊張化、血流量の低下、毛母細胞の活性低下が起こり、脱毛症を発生させることが示唆されている。

【0005】従来より、様々な皮膚化粧品及び養毛化粧品が開発されているが、コラーゲンの代謝に直接働きかけることによって積極的に上記の問題を解決しようとする試みは、殆どなされていなかった。

【0006】ところで、コラーゲナーゼは、結合組織中の間質型コラーゲン(I型、II型、およびIII型コラーゲン)を分解する際の律速酵素であり、コラーゲンの代謝に重要な役割を果たしている。コラーゲナーゼは、前

駆体であるプロコラーゲナーゼとして細胞より分泌され、生体内ではその後プラスミンやストロムライシン等のタンパク分解酵素によってコラーゲナーゼに活性化される(Biochemical Journal、166巻、21頁、1977年およびProceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.、86巻、2632頁、1989年参照)と考えられている。

【0007】以上のことから、老化に伴うコラーゲンの代謝回転速度低下の改善のためには、プロコラーゲナーゼの産生を促進する物質が有効と考えられる。

【0008】細胞のプロコラーゲナーゼ産生能を増強することを可能とする物質として、これまで、インターロキン1、腫瘍壊死因子(TNF)、表皮成長因子(EGF)、血小板誘導成長因子(PDGF)等のサイトカインおよびホルボールエステル等が知られている。しかしこれらのサイトカイン類は高価であり、製造コストが高くなる。また、ホルボールエステルは発癌プロモーター物質であってその使用は安全と言いがたい。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】従って、本発明の目的とするところは、プロコラーゲナーゼ産生促進作用、及び老化に伴うコラーゲンの代謝回転速度低下の改善効果を有し、しかも安価で安全性にも優れたコラーゲン代謝賦活剤、及び皮膚の柔軟性、弾力性、皺における改善効果に優れた皮膚化粧品や育毛効果及び脱毛予防効果に優れた養毛化粧品等の化粧品を提供するにある。

【0010】

【課題を解決するための手段】上述の目的は、温泉水を含有することを特徴とするコラーゲン代謝賦活剤、下記(A)～(C)よりなる群から選択される温泉水を含有することを特徴とする化粧品によって達成される。

(A) 6 mM以上の硫酸イオンを含む温泉水。

(B) カリウム、ナトリウム、カルシウム、マグネシウムの総陽イオン量が30 mM以上である温泉水。

(C) 塩素、硫酸、炭酸水素、炭酸の総陰イオン量が30 mM以上である温泉水。

【0011】本発明に用いられる温泉水とは、次に示す成分の少なくとも一種を1 kg中規定量以上含有するものをいう。その成分及び含有量は、ガス性のものを除く溶存物質1 g以上、遊離炭酸250 mg以上、リチウムイオン1 mg以上、ストロンチウム10 mg以上、バリウムイオン5 mg以上、フェロまたはフェリイオン10 mg以上、第一マンガンイオン10 mg以上、水素イオン1 mg以上、臭素イオン5 mg以上、沃素イオン1 mg以上、フッ素イオン2 mg以上、ヒドロヒ酸イオン1.3 mg以上、メタ亜ひ酸1 mg以上、総硫黄1 mg以上、メタほう酸5 mg以上、メタけい酸50 mg以上、重炭酸ソーダ340 mg以上、ラドン2 nCi単位以上、あるいはラジウム塩10 pg以上である。

【0012】好ましい温泉水としては、硫酸イオンを6

mM以上含有する温泉水、またはカリウム、ナトリウム、カルシウム、マグネシウムを総陽イオン量30mM以上含有する温泉水、あるいは塩素、硫酸、炭酸水素、炭酸を総陰イオン量30mM以上含有する温泉水等が挙げられる。

【0013】本発明のコラーゲン代謝賦活剤は、温泉水自体、または温泉水を水、中和水などで希釈したもの、或いは希釈した温泉水にメチルパラベン等の防腐剤などを適宜添加したもの等の形で供与される。

【0014】本発明のコラーゲン代謝賦活剤は、細胞培養の際、培地に添加することによって、医学・薬学上重要なプロコラゲナーゼの産生量を増加させるのに用いることができる。

【0015】本発明の化粧料は、常法に従って、ローション類、乳液類、クリーム類、軟膏類、パック類等の皮膚化粧料、又はヘアートニック、ヘアーローション、ヘアークリーム、ヘアーコンディショナー、シャンプー、リンス、ヘアージェル、ヘアーミスト、ヘアーフォーム等の養毛化粧料の形態にすることができる。また、界面活性剤、保湿剤、pH調整剤、増粘剤、殺菌剤、防腐剤、角質溶解剤、抗酸化剤、香料、色素、紫外線吸収剤、顔料、抗男性ホルモン剤等を、本発明の目的を損なわない範囲で適宜配合することができる。

【0016】本発明のコラーゲン代謝賦活剤および化粧料への温泉水の配合量は、その泉質により異なるが、コラーゲン代謝賦活剤および化粧料の総量を基準として0.1～99重量%が好ましく、特に5～99重量%が好ましい。

【0017】

【実施例】以下、試験例、実施例および比較例を挙げて本発明を詳細に説明する。尚、試験例中に用いた語句の

定義を記載する。

【0018】MEM培地：最少必須培地10-101（大日本製薬社製）1袋に精製水1l加え、それぞれ終濃度0.1重量%ラクトアルブミン酵素水解物（シグマ社製）、1容量%非必須アミノ酸、1mMピルビン酸ナトリウム（以上いずれも大日本製薬社製）、0.12重量%炭酸水素ナトリウムおよび50mg/lストレプトマイシンを添加して調製する。

【0019】2倍濃度MEM培地：最少必須培地10-101（大日本製薬社製）1袋に精製水500ml加え、それぞれ終濃度0.2重量%ラクトアルブミン酵素水解物（シグマ社製）、2容量%非必須アミノ酸、2mMピルビン酸ナトリウム（以上いずれも大日本製薬社製）、0.24重量%炭酸水素ナトリウムおよび100mg/lストレプトマイシンを添加して調製する。

【0020】FBS：牛胎仔血清

【0021】測定用緩衝液：0.2MNaCl、5mM CaCl_2 、0.05容量%Brij-35を含有する50mMトリス水溶液を塩酸にて室温でpH7.5に調整した緩衝液。

【0022】プロコラゲナーゼ産生量：本実験では、プロコラゲナーゼ産生量は、トリプシンで活性化して得られるコラゲナーゼ活性として定量した。

【0023】実施例1～5

源泉から採取した温泉水1～5（表1、2参照）は、酸性の場合pHを10N水酸化ナトリウムで中和し、ポアサイズが0.2 μm のニトロセルロース膜（アドバンテック東洋製、DISMIC-25）で濾過滅菌し、コラーゲン代謝賦活剤とした（実施例1～5）。尚、表中の数値は、mMを表す。

【0024】

【表1】

	温泉水番号 (泉質)	温泉水 1	温泉水 2 (Na-K-塩化物泉)	温泉水 3 (Ca-Na-塩化物泉)
陽 イ オ ン	カリウムイオン	0.1	4.3	0.23
	ナトリウムイオン	16.1	220.2	50.0
	カルシウムイオン	0.42	33.9	33.9
	マグネシウムイオン	0.003	21.5	0.42
	計	16.623	279.9	84.55
	マンガンイオン	—	0.004	0.03
	Feイオン	—	0.009	0.001
	Znイオン	—	0.003	—
	アルミニウムイオン	—	—	—
	アモニウムイオン	—	—	—
陰 イ オ ン	Srイオン	—	0.08	—
	Liイオン	—	—	—
	塩素イオン	2.81	308.7	108.9
	硫酸イオン	6.64	16.6	0.02
	炭酸水素イオン	0.99	0.82	0.22
	炭酸イオン	—	0.09	—
	計	10.44	326.21	109.14
	フッ素イオン	—	0.02	—
	臭素イオン	—	0.42	—
	ヨウ素イオン	—	0.001	—
	硫酸水素イオン	—	—	—
	硫化イオン	—	—	—
	亜硫酸イオン	—	—	—
	過硫酸イオン	—	—	—
	メタケイ酸	1.00	1.8	0.55
	メタホウ酸	0.06	0.2	0.06
	メタ亜ヒ酸	—	0.002	—
	遊離硫化水素	—	—	—
	遊離二酸化炭素	—	0.04	—
	pH	—	7.7	7.3
	水温	—	48℃	26℃
			使用位置	

【0025】

【表2】

	温泉水番号 (泉質)	温泉水 4 (Na-塩化物硫酸塩泉)	温泉水 5 (硫酸塩塩化物泉)
陽 イ オ ン	カリウムイオン	0.91	0.31
	ナトリウムイオン	27.2	1.9
	カルシウムイオン	3.49	1.8
	マグネシウムイオン	0.05	1.1
	計	31.65	5.11
	マンガンイオン	0.001	0.02
	Feイオン	0.002	0.26
	Znイオン	—	—
	アルミニウムイオン	—	1.7
	アモニアイオン	—	—
陰 イ オ ン	Srイオン	—	8.71
	Liイオン	—	—
	塩素イオン	25.3	8.38
	硫酸イオン	4.8	6.71
	炭酸水素イオン	0.89	—
	炭酸イオン	—	—
	計	30.99	15.09
	フッ素イオン	—	0.57
	臭素イオン	—	—
	ヨウ素イオン	—	—
	硫酸水素イオン	—	1.95
	硫化イオン	—	—
	チオ硫酸イオン	—	—
	メタケイ酸	1.29	3.10
	メタリン酸	—	0.16
	メタ亜ヒ酸	—	—
	遊離硫化	—	0.19
	遊離二酸素	—	—
	pH	8.1	2.0
	泉温	68.4 °C	—

【0026】

試験例-1 (プロコラゲナーゼ産生促進試験)

1) 細胞の前培養

正常ヒト線維芽細胞株〔白人女性の皮膚より採取された Detroit-551 (ATCC CCL 110)〕を10容量% FBSを含むMEM培地にて 1×10^5 個/mlに調製し、6穴プレートに2mlずつ播種して、5%炭酸ガス、飽和水蒸気下、37℃で培養した。

【0027】2) コラーゲン代謝賦活剤含有培地の調製
実施例1～5のコラーゲン代謝賦活剤と滅菌水を混合し、その混合液1容量に対し、1.2容量% FBSを添加した2倍濃度MEM培地を1容量加えコラーゲン代謝賦活剤12.5重量%含有培地とした。

【0028】3) プロコラゲナーゼの取得

細胞播種24時間後培養液を吸引除去し、終濃度0.6容量% FBSを添加したMEM培地で細胞を2回洗浄し

た後、上述のコラーゲン代謝賦活剤含有培地2mlに置換し、9日間培養して培養上清を得た。

【0029】得られた培養上清250μlに10mMトリス塩酸緩衝液〔4℃でpH7.8に調整、1mM塩化カルシウム、0.05容量%Brij-35を含む〕を1.75ml加え、同緩衝液で平衡化したCM-セファロースCL-6B™ (ファルマシア社製、ベッド容量0.5ml)に0.5mlずつ4回供した。

【0030】次に、125mM食塩を含む同10mMトリス塩酸緩衝液0.5ml4回流してインヒビターを除去し、500mM食塩を含む同10mMトリス塩酸緩衝液0.5ml4回流してプロコラゲナーゼを回収した。

【0031】回収したプロコラゲナーゼの濃度を、測定用緩衝液にて約0.1～0.7単位/mlに調整し、これを試験液とした。

【0032】4) プロコラゲナーゼの活性化

次に、試験液50 μ l にトリプシン溶液（シグマ社製、Type 12 を測定用緩衝液にて濃度1 mg/ml に調製）20 μ l を添加し、35℃にて5分間インキュベートした後、ダイズトリプシンインヒビター溶液（メルク社製 No. 24020 を測定用緩衝液にて濃度3 mg/ml に調製）30 μ l を添加してトリプシンを失活させ、コラゲナーゼ溶液を得た。

【0033】5) プロコラゲナーゼ産生量の測定
フルオレッセンイソチオシアネート（FITC）で標識されたI型コラーゲン（濃度1 mg/ml のFITC-コラーゲン酢酸溶液、コスモバイオ社製）を基質溶液として用い、永井等の方法（炎症、4巻、2号、123頁、1984年参照）に準じて上記コラゲナーゼの活性（単位/ml）を測定した。そして、上記のトリプシン処理によりプロコラゲナーゼから生じるコラゲナーゼが、35℃にて1分間当り1 μ g のI型コラーゲン（FITC-コラーゲン）を分解する量をプロコラゲナーゼの1単位とし、プロコラゲナーゼ産生量（単位/培養液ml）を求めた（この値をXとする）。

【0034】一方、コラーゲン代謝賦活剤の代わりに精製水を加え（比較例1）、上記と同様の操作により温泉水を添加しない場合のプロコラゲナーゼ産生量（単位/培養液ml）を求めた（この値をYとする）。

【0035】次いで、これらの値から下式によりプロコラゲナーゼ産生促進率を算出した。

【0036】

プロコラゲナーゼ産生促進率 = $(X - Y) / Y$

【0037】6) 試験結果

得られた培養上清中のプロコラゲナーゼ量を定量した結果を表3に示す。本発明のコラーゲン代謝賦活剤の添加で、細胞のコラゲナーゼ産生が1.8倍～3.8倍と増加し、温泉水の産生促進作用を確認した。この時、細胞数が無添加のそれと変わらず、温泉水が細胞を死滅させるような事がなかったことから、本発明のコラーゲン代謝賦活剤が安全であることが確認された。

【0038】

【表3】

	有効成分	温泉水中の(A), (B) 又は(C) 量(mM)	コラゲナーゼ 産生促進率	細胞数 $\times 10^{-4}$ 相対比
比較例1	精製水	—	1.0	1.0
実施例1	温泉水1	6.64 (A)	1.8 \pm 0.4*	1.0 \pm 0.2
実施例2	温泉水2	16.6 (A)	3.8 \pm 0.2**	0.9 \pm 0.1
実施例3	温泉水3	84.6 (B)	3.8 \pm 0.8**	1.2 \pm 0.2**
実施例4	温泉水4	31.0 (C)	2.0 \pm 0.3*	0.8 \pm 0.2
実施例5	温泉水5	6.71 (A)	2.0 \pm 0.1*	1.1 \pm 0.0
* 精製水群と比較し、P(0.05)の危険率で有意(Duncan 法)。 ** 精製水群と比較し、P(0.01)の危険率で有意。				

【0039】実施例6

0.5lの温泉水1に、終濃度0.1重量%のメチルパラベンおよび精製水を加え4lとした。これを、100mlずつ40本のガラスビンに分注し、温泉水12.5重量%を含有するコラーゲン代謝賦活剤を得た。

【0040】実施例7

0.5lの温泉水2を用いる他は、実施例6と同様にし、温泉水12.5重量%を含有するコラーゲン代謝賦活剤を得た。

【0041】実施例8

0.5lの温泉水3を用いる他は、実施例6と同様にし、温泉水12.5重量%を含有するコラーゲン代謝賦活剤を得た。

【0042】実施例9

0.5lの温泉水4を用いる他は、実施例6と同様にし、温泉水12.5重量%を含有するコラーゲン代謝賦活剤を得た。

【0043】実施例10

0.5lの温泉水5を用いる他は、実施例6と同様にし、温泉水12.5重量%を含有するコラーゲン代謝賦活剤を得た。

【0044】比較例2

温泉水の代わりに精製水0.5lを用いて、比較のための試験検体を得た。

【0045】試験例-2（美肌効果実用試験）

1) 試験検体

実施例6～10記載のコラーゲン代謝賦活剤および比較例2記載の試験検体

【0046】2) 試験方法

荒れ肌、小皺、乾燥肌等を訴える女子被験者（35～55才）20名に試験検体を毎日朝夕2回、連続3ヶ月間塗布使用させた後、皮膚の柔軟性、弾力性、皺の改善について評価させた。各項について「皮膚の柔軟性が向上した」、「皮膚の弾力性が向上した」、「皮膚の皺が改善した」と回答した人数で示した。

【0047】3) 試験結果

結果を表4に示した。表より明らかなように実用試験においても効果が認められた。

【0048】

【表4】

試験検体	柔軟性	弾力性	皺の改善
比較例2	6	8	8
実施例6	10	11	10
実施例7	17	17	18
実施例8	18	17	17
実施例9	15	14	16
実施例10	12	13	14

【0049】実施例11（ローション）

実施例6のコラーゲン代謝賦活剤	150.0g
ラウリル硫酸ナトリウム	0.5g
精製水	12.9g
サラシミツロウ	0.1g
セタノール（商品名ピナソールNAA 48、日本油脂株式会社製）	1.5g
濃グリセリン	5.0g

【0051】実施例12（ローション）

実施例8のコラーゲン代謝賦活剤とラウリル硫酸ナトリウム、精製水を湯浴で80℃に加温して混合し、一方サラシミツロウ、セタノール、濃グリセリンを80℃に加温して混合し、この混合物へ加温した温泉水混合物を攪拌しながら徐々に加え、ホモジナイザー（TOKUSHUKIKAK OGYO製）で2.5分間激しく攪拌（2500rpm）した。攪拌しながら徐々に室温まで冷却して、100g中に温泉水7.4重量%を含むローションを得た。

【0052】

【表6】

実施例8のコラーゲン代謝賦活剤	100.0g
ラウリル硫酸ナトリウム	0.5g
精製水	62.9g
サラシミツロウ	0.1g
セタノール	1.5g
濃グリセリン	5.0g

【0053】実施例13（クリーム）

実施例6のコラーゲン代謝賦活剤とラウリル硫酸ナトリウム、精製水を湯浴で80℃に加温して混合し、一方サラシミツロウ、セタノール、濃グリセリンを80℃に加温して混合し、この混合物へ加温した温泉水混合物を攪拌しながら徐々に加え、ホモジナイザー（TOKUSHUKIKAK OGYO製）で2.5分間激しく攪拌（2500rpm）した。攪拌しながら徐々に室温まで冷却して、100g中に温泉水11重量%を含むローションを得た。

【0050】

【表5】

下記の成分③を約80℃で均一に混合溶解し、約80℃で均一に混合溶解しておいた成分①中に加えて乳化した後、約50℃で均一に混合溶解しておいた成分②を添加し、約30℃まで冷却して、調製した。

【0054】

【表7】

成分①	スクワラン	10.0g
	オリーブ油	10.0g
	固形パラフィン	5.0g
	セタノール	4.0g
	ソルビタンモノステアレート	2.0g
	ポリオキシエチレン	2.0g
	ソルビタンモノステアレート (20E. O.)	
成分②	実施例9のコラーゲン代謝賦活剤	60.0g
成分③	グリセリン	5.0g
	精製水	2.0g

【0055】

試験例-3 (ヒト頭毛の成長促進効果試験)

1) 試験検体

実施例6～10記載のコラーゲン代謝賦活剤および比較例2記載の試験検体

【0056】2) 試験方法

30～40代の毛成長に衰えの認められる男性被験者10名の頭頂部の頭髪を直径約7mmの円形状に剃毛した。さらに、毛刈り1日後および3日後に林らの方法 (British Journal of Dermatology, 125巻、123頁、1991年) により毛成長速度を対象部位の毛髪について求め、平均値 (A) を計算した。次に、各被験者に被験部位を中心として、実施例または比較例の試料を毎日朝夕2回、約3ml塗布し、よくマッサージさせた。試験開始3ヵ月目に同一部位の毛成長速度の測定を行い、平均値 (B) を計算した。効果の判定は、各試料使用前後の被 (B) / (A) の平均値を比較することによった。

【0057】3) 試験結果

結果を表8に示した。ヒト頭毛の成長促進効果が見られた。

【0058】

【表8】

試験検体	ヒト頭髪毛成長促進
比較例2	1.01
実施例6	1.18
実施例7	1.34
実施例8	1.36
実施例9	1.25
実施例10	1.25

【0059】

実施例14～18 (オイリーヘアートニック)

0.5lの温泉水1～5各々に、終濃度0.1重量%のメチルパラベンおよび精製水を加え1lとし、温泉水50重量%を含有するコラーゲン代謝賦活剤を得た。これを37.2g用い、表9の組成に従って、親水性成分と疎水性成分を混合攪拌して、オイリーヘアートニックを得た (実施例14～18)。尚、温泉水5は、10N水酸化ナトリウムで中和して用いた。

【0060】比較例3 (オイリーヘアートニック)

温泉水の代わりに精製水0.5lを用いる以外は、実施例14～18と同様にして、オイリーヘアートニックを得た。

【0061】

【表9】

「親水性成分」	グリセリン	5.0 g
	香料	0.1 g
	温泉水1～5含有コラーゲンナーゼ代謝改善剤	37.2 g
「親油性成分」	オリーブ油	5.0 g
	イソプロピルミリステート	2.0 g
	イソプロピルメチルフェノール	0.1 g
	ポリオキシエチレン	0.5 g
	ノニルフェニルエーテル (20E.O.)	
	パラオキシ安息香酸メチル	0.1 g
	エタノール	50.0 g

【0062】試験例－4（養毛効果実用試験）

1) 試験検体

実施例14～18記載の養毛化粧料および比較例3に記載の試験検体

【0063】2) 試験方法

30～40代の毛成長に衰えの認められる男性被験者20名の頭部に毎日朝夕2回、連続6ヵ月間試料を塗布した後の効果を判定した。効果の判定は、育毛効果および脱毛予防効果の各項に対して、「生毛が剛毛化した、あるいは生毛が増加した」、「脱毛が少なくなった」と回答した人数で示した。

【0064】3) 試験結果

結果を表10に示した。ヒト実用試験において、育毛剤効果および脱毛予防効果が認められた。

【0065】

【表10】

試験検体	育毛効果	脱毛予防効果
比較例3	5	7
実施例14	13	12
実施例15	16	15
実施例16	16	16
実施例17	14	13
実施例18	13	14

【0066】実施例19（ヘアークリーム）

実施例8のコラーゲン代謝賦活剤を含む下記親水性成分を、約80℃で均一に混合溶解し、予め約80℃で均一に混合溶解しておいた親油性成分中に加えて乳化した後、約50℃で香料成分を添加し、約30℃になるまで攪拌を続けヘアークリームを調製した。

【0067】

【表11】

親油性成分	流動パラフィン	30.0g
	ステアリン酸	5.0g
	セタノール	5.0g
	ソルピタンモノステアレート	3.0g
	ポリオキシエチレンソルピタンモノステアレート	3.0g
	イソプロピルメチルフェノール	0.1g
親水性成分	実施例8のコラーゲン代謝賦活剤	48.5g
	パラオキシ安息香酸メチル	0.2g
	グリセリン	5.0g
香料	香料	0.2g

【0068】

【発明の効果】以上の結果から、本発明のコラーゲン代謝賦活剤がプロコラゲナーゼの産生を促進し、そのコラーゲン代謝賦活剤を皮膚化粧料に配合することにより、

皮膚の柔軟性、弾力性、皺の改善効果に優れた化粧料が提供できること、及び養毛化粧料に配合することにより、育毛効果と脱毛予防効果に優れた養毛化粧料を提供できることは明らかである。

フロントページの続き

(51)Int. Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 33/00		9454-4C		
35/08	A D T	7431-4C		

(72)発明者 松田 誠司
神奈川県小田原市寿町5丁目3番28号 鐘
紡株式会社化粧品研究所内

(72)発明者 天谷 努
神奈川県小田原市寿町5丁目3番28号 鐘
紡株式会社化粧品研究所内

(72)発明者 宮本 達
神奈川県小田原市寿町5丁目3番28号 鐘
紡株式会社化粧品研究所内

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.